



TITLE:

Development of Organic-Inorganic Hybrid Polysaccharide Nanogels for Drug Delivery Nanocarriers( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Kawasaki, Riku

---

CITATION:

Kawasaki, Riku. Development of Organic-Inorganic Hybrid Polysaccharide Nanogels for Drug Delivery Nanocarriers. 京都大学, 2017, 博士(工学)

ISSUE DATE:

2017-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20407>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により要約は2018-03-23に公開

京都大学	博士（工学）	氏名	河崎 陸
論文題目	Development of Organic-Inorganic Hybrid Polysaccharide Nanogels for Drug Delivery Nanocarriers (薬物ナノキャリアとしての有機—無機ハイブリッド多糖ナノゲルの開発)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>本論文は、先端医療分野において注目を集めているドラッグデリバリーシステム（DDS）への利用を目的とした新規有機—無機ハイブリッド多糖ナノゲルの構築と機能評価に関する結果をまとめたものである。本論文は、緒論と本論 2 編 5 章からなっている。有機材料と無機材料を分子・ナノレベルで組み合わせることで得られる有機—無機ハイブリッドマテリアルは有機材料の示す優れた柔軟性・加工性に加え、無機材料の優れた磁気、光化学的な性質を付与することができる。高分子材料をテンプレートや基盤材料として用いることでナノメートルサイズスケールでの構造制御が可能になり幅広い分野で利用されるようになってきた。近年、有機—無機ハイブリッドナノ材料は、バイオマテリアルとして、バイオ計測・診断、ドラッグデリバリーシステム（DDS）、再生医療をはじめとした様々な先端医療分野での応用がなされている。一方で、ナノサイズの 3 次元ネットワーク構造を有するナノゲルは、新規なナノキャリアとして注目を集めている。特に、疎水化多糖が形成する自己組織化ナノゲルはタンパク質をそのポリマーマトリックス中に安定に複合化しえるだけでなく、外部刺激にตอบสนองして、活性を保持した状態で、複合化したタンパク質を放出しえることが報告されている。この優れたシャペロン機能の利用により、これまでに細胞内タンパク質デリバリーやがん免疫療法を指向した抗原デリバリーキャリアとしての応用展開がなされている。本博士学位論文ではこのような優れた特性を示す疎水化多糖ナノゲルと酸化鉄ナノ微粒子やカルボランとのハイブリッド体の構築による新規 DDS の創製を行っている。</p> <p>緒論では有機—無機ハイブリッドナノマテリアルやそのバイオマテリアルとしての応用について概説し、DDS の現状や課題について、研究背景について述べるとともに、本論文の研究の目的を明確にし、次いで本論文の構成と概要について論じた。</p> <p>第 1 編（第 1 章～第 3 章）では、疎水化多糖からなるナノゲルと酸化鉄ナノ粒子を混合することにより、得られる新規磁性ナノゲルの創製とその磁気誘導型タンパク質デリバリーナノキャリアとしての機能評価についての研究がまとめられている。</p> <p>第 1 章では、疎水化多糖からなるナノゲルと疎水化酸化鉄ナノ粒子を混合することにより得られる磁性ナノゲルの基礎的な構造特性及び、その細胞内タンパク質デリバリーキャリアとしての機能について検討を行った。得られた磁性ナノゲルの構造特性について詳細に解析を行ったところ直径 100 nm 程度で酸化鉄ナノ粒子のクラスター構造を有することが明らかとなった。また、得られた磁性ナノゲルが分子量や等電点の異なる種々のタンパク質を効率的に複合化することによって、安定化しえること、外部刺激により活性を保持した状態で複合化したタンパク質を放出しえる分子シャペロン機能を示すことを見出した。磁性ナノゲルを用い、外部磁場の印加により、極めて高効率に酵素や生理活性タンパク質を細胞質に導入しえることを明らかにした。また、磁性ナノゲルにより送達されたタンパク質の機能により、細胞の機能制御が可能であることが明らかとなった。</p> <p>第 2 章では上記で調製した磁性ナノゲルと多孔性培養基板を組み合わせることで、再生医療の分野で注目されている細胞治療を指向したタンパク質導入による新規細胞</p>			

京都大学	博士（工学）	氏名	河崎 陸
<p>機能制御法について検討を行った。磁性ナノゲルが培養基板の直下から磁場の印加により細胞内へとタンパク質を送達し、細胞内のタンパク質との交換反応により、空となった磁性ナノゲルがさらに磁気誘導によって、細胞基板下の細胞外へと放出される現象を見出した。この手法の利用によって、1時間という極めて短い時間で効率的に培養細胞へと磁性ナノゲルを細胞内部に蓄積させることなく、タンパク質のみを送達しえることが明らかとなった。また、磁性ナノゲルの集積を回避しえるために細胞毒性が極めて低いこともわかった。次に、細胞治療へ応用が期待されている脂肪由来間葉系幹細胞に対して、転写因子タンパク質デリバリーによる分化誘導実験を行ったところ、効率的な分化誘導が確認され、新規細胞治療法としての有用性を示した。</p> <p>第3章では、磁性ナノゲルを用いた磁気誘導型タンパク質デリバリーによるがん治療へ応用について検討した。磁性ナノゲルを用いた磁気誘導デリバリーによって、抗腫瘍活性を示すタンパク質を種々のがん細胞に対して送達したところ、がん種によらず極めて効率的に細胞死を誘導可能であること、また、その細胞死のメカニズムがアポトーシスによるものであることを明らかとした。磁性ナノゲルの血中投与における担がんマウスに対する腫瘍集積性を検討したところ、がん組織表層での磁場の印加により、肝臓組織への集積の減少と腫瘍組織への効率的な集積が可能であった。結果的に、重篤な副作用を示すことなく、有意な抗腫瘍効果が確認され、本システムのがん治療への有用性が明らかとなった。次に、表層部に形成される口腔がんへの適応を目的に、がん組織直下への磁性ナノゲル/抗腫瘍活性タンパク質複合体の局所投与によるがん治療実験を行った。がん表層での磁場の印加によって、がん組織のみならずがん組織周辺のミクロ環境を破壊することでがんが完治することが明らかになり、新規がん治療法としての有用性を示した。</p> <p>第2編（第4章～第5章）では、がんのホウ素中性子捕捉療法を指向した新規 DDS の開発についての研究がまとめられている。</p> <p>第4章では、高い疎水性を示すことから、従来、薬剤の疎水性コアとして用いられてきたカルボランを親水性多糖であるプルランに導入することでがんホウ素中性子捕捉療法のための両親媒性多糖の合成手法を確立した。合成されたホウ素化多糖分子が疎水性相互作用を駆動力として自己組織的に会合し、直径 100 nm 程度の安定なナノゲルを形成することを見出した。また、カルボランによって形成される疎水性ナノドメインに抗がん剤の一種であるパクリタキセルが取り込まれ、抗がん剤封入ナノゲルが形成しえることが明らかとなった。そのため、ホウ素中性子捕捉療法に併せて、がん化学療法への応用可能性が示された。</p> <p>第5章では、ホウ素化多糖ナノゲルのがんホウ素中性子捕捉療法への応用可能性について検討した。ホウ素化多糖ナノゲルと細胞との相互作用を調べたところ、細胞内に効率よく取り込まれ、核膜周辺に集積することを見出した。また、カルボランに由来する細胞毒性がナノゲル化により減少した。さらに、ホウ素化多糖ナノゲルを血中投与したところ、効率的な腫瘍集積性が認められ、中性子照射によって高い治療効果を示すことが期待される結果が得られた。</p>			

## (論文審査の結果の要旨)

本論文は、自己組織化ナノゲルを基盤とした新規有機—無機ハイブリッド多糖ナノゲルの創製とそのドラッグデリバリーシステム (DDS) への応用についてまとめたものであり、得られた主な成果は次の通りである。

1. 第1章では、疎水化多糖と疎水化酸化鉄ナノ粒子を混合することにより、ナノゲル構造内部に酸化鉄ナノ粒子を集積化した磁性ナノゲルの調製法を確立した。また、本磁性ナノゲルが様々な水溶性タンパク質を効率的かつ安定にそのポリマーマトリックス中に複合化しえ、外部刺激に応答することで、活性を保持した状態で放出しえる分子シャペロン機能を示すことを見出した。磁性ナノゲルを利用した、外部磁場印加による細胞質への極めて効率的なタンパク質導入に成功し、送達タンパク質による細胞の機能制御が可能であることを明らかとした。
2. 第2章では、磁性ナノゲルと多孔性培養基板の併用により、キャリアとしての磁性ナノゲルを細胞内部に集積させることなく、タンパク質のみを細胞内に送達可能なシステムの構築に成功した。また、このシステムの利用による転写因子デリバリーにより、脂肪由来幹細胞に対する効率的な分化誘導促進効果が確認され、再生医療において期待されている細胞治療への有用性を明らかとした。
3. 第3章では、担がんマウス系での磁性ナノゲルの血中投与による組織移行実験により、磁気誘導によりがん組織の集積性を向上させることが可能であり、抗腫瘍活性タンパク質の送達によって有意な腫瘍成長抑制効果がえられることを明らかとした。さらに、表層部に形成される口腔がん治療を指向した、表層がん組織直下への磁性ナノゲルの局所投与と磁気誘導による新規がん治療法を開発し、その有用性を示した。
4. 第4章と第5章では、高い疎水性を示すことが知られているカルボランを親水性多糖であるプルランに化学的に修飾することにより、新規両親媒性ホウ素化多糖の合成法を確立し、そのホウ素化多糖が水中で安定なナノゲルを形成することを見出した。このホウ素化多糖ナノゲルが細胞に対して、効率的に取り込まれること、担がんマウスにおける血中投与において、優れた腫瘍集積性を示すことを明らかにした。

以上、本論文は、分子シャペロン機能を有する新規磁性ナノゲルおよびホウ素中性子捕捉療法で注目されている機能分子であるカルボランを組み込んだ新規ナノゲルの開発に成功し、新規ドラッグデリバリーシステムとしての有用性を明らかにしたものであり、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士 (工学) の学位論文として価値あるものと認める。また、平成 29 年 2 月 22 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行って、申請者が博士後期課程学位取得基準を満たしていることを確認し、合格と認めた。なお、本論文は、京都大学学位規程第 14 条第 2 項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。